

14) ニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験法 (ICE 法) の行政的な受入れのための評価

研究要旨

JaCVAM 評価会議は、ニワトリ摘出眼球を用いる眼刺激性試験 (ICE 法: Isolated Chicken Eye Test) を定められた方法で注意点を適切に守って利用すれば、化学物質の眼刺激性を科学的に評価できると結論した。

A. 研究目的

ニワトリ摘出眼球を用いる眼刺激性試験 (ICE: Isolated Chicken Eye Test) について、第三者評価委員会からの報告を受け、審議した。

D. 研究方法

B-1. メンバー

平成 20 年度から、以下のメンバーを 2009-2010 年評価会議委員として要請し、第三者評価報告書内容を資料として用い、行政的な受け入れ評価を行った。

(議長)

井上 達 (国立医薬品食品衛生研究所)

(委員)

田中憲穂 (食品薬品安全センター 秦野研究所)

吉田武美 (昭和大学薬学部)

横関博雄 (東京医科歯科大学)

中村和市 (日本製薬工業協会)

小野寺博志 (医薬品医療機器総合機構)

吉田 緑 (国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター 病理部)

五十嵐良明 (国立医薬品食品衛生研究所
環境衛生化学部)

吉村 功 (東京理科大学)

岡本裕子 (日本化粧品工業連合会)

B-2. 評価方法

ニワトリ摘出眼球を用いる眼刺激性試験 (ICE 法) について、第三者評価委員会からの報告を受け、7 項目について審議した。

C. 結果および考察

1. 検討対象の試験法とその妥当性を示すデータは、透明で独立な評価を受けているか。

- Prinsen らのおよび Balls らのグループによって GLP に準拠して行われ、論文として公開された 5 つのバリデーション試験の結果が³⁻⁷⁾、動物実験代替法に関する独立した機関である ICCVAM^{注釈1)}において評価された。

- 上記 5 試験のデータ以外にも ICE 法による報告がされているが、被験物質情報の無記載、数字データの無記載、個体データの欠如などがあり、検討対象として取り上げなかった。
- この評価データをもとに、「JaCVAM 眼刺激性試験代替法評価委員会」によって評価された。

2. 当該試験法で得られるデータは、対象毒性を十分に評価あるいは予測できるものであるか。データは、当該試験法と従来の試験法の、代替法としての繋がりを示しているか。あるいは (同時に) そのデータは、当該試験法と、対象としているあるいはモデルとしている動物種についての影響との繋がりを示しているか。

- 当該試験法は、ヒトの眼刺激性に対する毒性評価に用いられているウサギを用いた Draize 法のうち、腐食性・強刺激性評価の代替法として、ニワトリの摘出眼球に生じる角膜の傷害 (腫脹、混濁、蛍光色素染色性) を判定するものである。

- 当該試験法は、Draize 法による化学物質の眼に対する腐食性・強刺激性分類との一致度が十分である。これらの指標の変化は眼に対する非可逆的影響を現わすものであり、化学物質の眼に対する腐食性・強刺激性の判定に利用できる。

- なお、ウサギとニワトリの角膜は解剖学および生理学的な違いがあり、かつ、当該試験法では摘出眼球を用いているため、腐食性・強刺激性以外の予測には限界がある。

3. 当該試験法は、ハザードあるいはリスク、あるいはその両方を評価するのに有用であるか。

- 化学物質の眼に対する腐食性および強刺激性 (ハザード) を評価するのに有用である。リスク評価を目的とした判定基準でなく、濃度反応性の解析も行われていない。

4. 当該試験法とその妥当性を示すデータは、その試験法で安全性を保証しようとする、行政上のプログラムあるいは関係官庁が対象としている化学物質や製品を、十分広く対象としたものとなっているか。当該試験法が適用できる条件および適用できない条件が明確であるか。
- ・ 当該試験法の妥当性を示すデータは、合計 175 の化学物質または製品が試験され、うち 90 は単一の化学物質で、85 は市販品あるいは製剤など混合物で行われている。様々な化学構造、性質、性状の物質、かつ種々の刺激性強度のものが対象となっており、適用できる物質の範囲が明確である。
 - ・ 当該試験法は、対象とする物質の腐食性・強刺激性を多くの対象物質で評価できる。ただし、アルコール類、界面活性剤、性状が固体のものについての予測性能は不十分である。
 - ・ 当該試験法は、暴露直後の角膜の変化を評価する方法であり、その後の回復等の評価はできない。
5. 当該試験法は、プロトコルの微細な変更に対して十分頑健で、適切な訓練経験を持つ担当者と適切な設備のある施設において、技術習得が容易なものであるか。
- ・ 当該試験法は適切な訓練経験を持つ担当者と設備のある施設で実施可能である。しかし、機器の特殊性、汎用性および試験技術の修得から、現時点で日本国内への試験法の移転は困難である。
 - ・ 本プロトコルでの判定は、十分頑健性が確保されている。
6. 当該試験法は、時間的経費的に有用性があり、行政上で用いられやすいものであるか。
- ・ 試験費用面では Draize 法と大きな違いはないが、試験期間は短縮される。
 - ・ EU では ICE 法の陽性結果をもって化学物質を R41 に区分することを既に受け入れている。米国では、US EPA ^{注釈2} が化学物質の眼刺激性評価において、腐食性・強刺激性物質の判断に本試験の受け入れを表明している。
 - ・ 当該試験法は眼刺激性試験法として、GHS ^{注釈3} に準拠する腐食性・強刺激性物質の判定に有用と判断されており、上記状況か

ら考えて、我が国でも法規制の試験法として受け入れられる。

- ・ 現時点では日本国内での日常的な実施は困難であるが、国外には受託機関(1施設)があり、委託が可能である。
7. 当該試験法は、従来の試験法と比べて、科学的・倫理的・経済的に、新しい試験法あるいは改訂試験法であることが正当化されているか。
- ・ 当該試験法は、化学物質による不可逆的角膜傷害を捉えており、眼の腐食性および強刺激性を判定する試験法として科学的に正当である。
 - ・ 当該試験法は、Draize 法と比較して倫理的に優れている。
 - ・ 当該試験法は、経済的な動物実験代替法となる可能性がある。

D. 結論

以上の審議の結果、JaCVAM 評価会議は、眼刺激性試験代替法 (ICE 法) を定められた方法で注意点を適切に守って利用すれば、化学物質の眼に対する腐食性・強刺激性を科学的に評価できると結論した。

注釈

1. ICCVAM: Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods, USA
2. US EPA: United States Environmental Protection Agency
3. GHS: Global Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals

参考文献

- 1) 眼刺激性試験代替法の第三者評価報告書
ニワトリ摘出眼球を用いる眼刺激性試験
- 2) OECD (2005) OECD Series on testing and assessment Number 34, Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment, ENJ/JM/MONO (2005) 14
- 3) Prinsen and Koeter. (1993)
- 4) Balls et al. (1995)
- 5) Prinsen. (1996)
- 6) Prinsen. (2000)
- 7) Prinsen. (2005)

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究

分担研究年度終了報告書

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討

研究分担者 小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

医薬部外品（薬用化粧品）の安全性評価ガイドラインの中で動物実験代替法をどう使いこなしていくか検討するため、医薬部外品に関係の深い委員による「医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討会（以降、あり方検討会）と記す」を設立した。このあり方検討会の下に、さらに皮膚刺激性、感作性、皮膚透過性・経皮吸収、光関連毒性、遺伝毒性、眼刺激性の6分科会を設立し、検討作業を進めた。

すべての各分科会からの報告を受け、あり方検討会では各分科会の意見に合意し、さらに以下のような提言を行った。

- ①動物福祉や動物実験の3Rsは尊重されなければならない。
- ②ただし、医薬部外品の安全性レベルを維持することを前提に、動物実験の要否、代替法の選択を判断すべきである。
- ③代替法はOECDテストガイドラインや公的な機関でバリデーション研究や第三者評価が実施されたものを用いる。
- ④代替法は、その適用範囲や限界を理解した上で実施されるべきである。

A. 研究目的

化粧品の2009年問題、動物実験代替法（以下、代替法と記す）の利用が進む国際情勢や動物愛護団体の活動を勘案して、医薬部外品（薬用化粧品）の安全性評価ガイドラインの中で動物実験代替法をどう使いこなしていくか検討が必要となってきた。

そこで、この問題について検討するため、医薬部外品に関係の深い委員による「医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討会（以降、あり方検討会）と記す」を設立した。

増田光輝（国立衛研）
佐々 斉（日本化粧品工業連合会 安全性部会 部会長）
西山直宏（日本化粧品工業連合会 安全性部会）
岡本裕子（日本化粧品工業会 代替法専門委員会 副委員長）
板垣 宏（日本動物実験代替法学会）
見田 活（医薬品医療機器総合機構）
鷺田 淳（厚生労働省）

B. 研究方法

B-1) 組織

B-1-1) あり方検討会委員

委員長

小島 肇（国立衛研）

委員

飯島正文（昭和大学）

松永佳世子（日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会理事長）

大野泰雄（国立衛研）

B-1-2) 分科会

本あり方検討会において、試験法の細かい議論をすることは時間的に難しいとの意見が多く、この検討会の下に試験法毎に分科会を設けて資料のとりまとめ、および試験法毎の原案作成をした。あり方検討会における議論の結果、図1に示すように、皮膚刺激性、感作性、皮膚透過性・経皮吸収、眼刺激性、光関連毒性、遺伝毒性の6分科会を設立し、議論を重ねた。各分科会の委員は表1に示した。

B-2) 方法

あり方検討会では、その活動方針を明確にし、分科会には以下の課題を課した。

- ①動物福祉や動物実験の 3Rs を尊重する。
- ②代替法の第三者評価委員会ではない。代替法を取り入れて安全性評価をどう担保するか、代替法の行政的な受け入れを検討する委員会である。
- ③扱うべき代替法は OECD(経済協力開発機構)で認められているか、公的な研究機関にてバリデーション研究が終了し、第三者評価も済んでいるものである。
- ④時間の関係で、国内外で進行している第三者評価を並行して実施する場合もある。
- ⑤代替法を用いる場合の長短所(限界と適用範囲)をまとめる。
- ⑥分担毎に代替法を用いた医薬部外品(薬用化粧品が対象)の安全性評価のあり方案を作る(必要なら評価フローチャートを作成する)。

以上の課題をもとに、各分科会で議論が進んだ。

C. 結果および考察

本年度は、あり方検討会からの皮膚刺激性試験分科会へのコメントもあり(第5回議事録:添付資料1)、皮膚刺激試験分科会が4回の会議を開催し、十分な議論を行った。その他の委員会は、1回のみで開催またはメールでの意見交換に留まり、昨年度までの中間報告からの大きな変更はなされなかった。

各分科会の中で、中間報告から大きな変更のあった皮膚刺激性分科会のみ結論を以下に示す。

C-1) 皮膚刺激性試験分科会

ESAC (ECVAM 科学的認証会議)の承認を受けた三次元培養表皮モデル EpiSkin™、EpiDerm™SIT (EPI-200) および SkinEthic™RHE を皮膚一次刺激性を評価する代替法として溯上に上げ、医薬部外品の申請における利用方法について検討した。これらすべてを収載した OECD テストガイドライン案が提案されているため、これらを対象試験法を Reconstructed Human Epidermis (RhE) として取り扱った。

RhE の特長は、Globally Harmonized System of Classification and Labeling (GHS) における「刺激性 (Category 2)」と「非刺激性 (No-Category)」を識別できることである⁴⁾。GHS による評価は、ウサギによる 4 時間暴露の皮膚一次刺激性試験結果にしたがって行われる。しかし、医薬部外品の申請において、

皮膚一次刺激性試験に求められているものは、24 時間暴露における刺激性強度の把握およびパッチテストを実施する場合の倫理面の情報の取得である。したがって、RhE は GHS で「刺激性」に分類される程度の強度に関する情報は得られるものの、暴露時間の違いもあり、ヒトでパッチテスト (24 時間閉塞貼付) を安全に実施できることを保証する情報が不足していると考えた。

上記の検討を経て、以下の結論を得た。

「医薬部外品の申請における皮膚一次刺激性評価資料として、現時点 (2009 年 9 月) で推奨されている代替法単独では予測性が十分とはいえない。しかし、評価が可能な場合は、動物愛護の観点から代替法の利用を望ましいとする。動物実験と代替法のどちらを利用するかについての判断は申請者に委ねることにする。ただし、代替法で非刺激性と評価された場合でも、ヒトパッチテストを実施する際には、倫理的に問題がないことが確認されている必要がある。」

C-2) 皮膚感作性試験分科会

現在の医薬部外品の製造販売承認申請において、皮膚感作性試験法としてモルモットを用いるいわゆる Maximization 法 (GPMT) あるいは Buehler 法が最も広く行われている。また近年マウスを用いる局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA) が代替法の一つとして OECD ガイドラインに記載され (TG429)、化学物質等の安全性評価に用いられるようになってきた。本分科会では、この現状を把握した上で LLNA に関して検討を進めた。

LLNA に関してこれまで報告された多くの論文や報告書、さらに OECD テストガイドラインを精査した。その結果、染毛剤などの医薬部外品、香料や防腐剤を含む原料を評価した論文等の報告から、LLNA が医薬部外品の皮膚感作性の有無の判定に有用であると判断した。ただし、LLNA においては、マウスの系統により反応性が異なることが報告されており、OECD テストガイドラインにも記載されている CBA マウスで評価することが重要であるとされた。また、用いる溶媒により評価化合物の溶解性は異なり、そのため適切な溶媒を用いないと、感作性の有無だけでなくその強さのランク分類にも影響することが確認された。今後は LLNA で適切な評価結果を得るためにも、上記 2 点に関して、十分に注意を払う必要があるとされた。

C-3) 眼刺激性分科会

眼刺激性試験として代表的なウサギを用いる Draize 試験は、化学物質の眼に対する刺激性を評価することが可能であり、ヒトの眼に対する安全性を担保する試験法として多くの規制当局に受け入れられている。一方、この試験法は動物愛護の観点で強い批判を受けており、他の試験法に比べて早い時期から代替法の開発やバリデーション研究が進められてきた。

本分科会では、まず Draize 試験に関する情報の確認を、過去の厚生科学研究報告資料等に基づいて実施した¹¹⁾。その際、*in vivo*で得られる毒性情報と *in vitro*の測定指標との関係、および医薬部外品の眼刺激性を評価するための判断基準等について確認した。また、国内外の眼刺激性試験代替法の研究開発動向を調査し、バリデーション研究や第三者評価の状況から有力と考えられる方法を対象として、その利用の可能性について検討した。その中には、第三者評価は未実施ではあるが、厚生科学研究でバリデーションが終了している細胞毒性試験も含まれている。

最終的には、本年9月に、OECD テストガイドラインに採択された2種類の試験法、「ウシ摘出角膜試験」と「ニワトリの摘出眼球試験」における医薬部外品の申請への利用について検討した。その結果、両法は化学物質の腐食性、および強刺激性を確認できるものの、医薬部外品に求められる弱刺激性、無刺激性を確認できる情報が不足しており、医薬部外品の眼刺激性試験として受入れるためには更なるデータに基づく科学的評価が必要であるとの見解でまとまった。

C-4) 光関連毒性分科会

「光関連毒性」とは、ある化合物が光（主に紫外線）の照射を受けて、毒性を発揮もしくは増強させる現象を言い、主なものとしては、皮膚に刺激作用を起こす「光毒性」、アレルギー性の反応を惹起する「光感作性」そして遺伝毒性を誘発する「光遺伝毒性」が知られている。

現在、動物を用いない試験法としては、「光毒性」を評価するための 3T3 ニュートラルレッド取り込み法（以下 3T3 NRU-PT 法という）が OECD テストガイドライン No. 432 に記載されている。

そこで、本分科会では、3T3 NRU-PT 法の医薬部外品の申請への利用について検証した。検証の際には、同試験法の EU におけるバリデ

ーションに関する論文ならびに、厚生労働科学研究にて同試験法について評価を行った際の報告書等を参考にした。

その結果、3T3 NRU-PT 法は被験物質の光毒性の有無について評価するのに適した試験法であるが、同時に本試験法についてはいくつかの短所があることも確認し、長短所を理解した上で、適切に用いる必要があるとされた。

なお、光感作性、光遺伝毒性その他の試験法については、適切な試験法が認証されておらず、検討しなかった。

C-5) 遺伝毒性分科会

医薬部外品の遺伝毒性の評価は単一の試験で評価するのではなく、*in vitro* 試験と *in vivo* 試験から成る複数の試験を組み合わせで評価する。このような組み合わせの評価は、日本と欧州で取り上げる試験法が異なれば、データの相互受け入れに支障となる可能性がある。そこで本分科会では、日本の医薬部外品申請で要求されている遺伝毒性試験の組み合わせと、欧州の化粧品安全性評価の指針で示されている遺伝毒性試験の組み合わせについて状況の違いをまとめ、相互のデータ受け入れの可能性について議論した。

具体的には、日本の医薬部外品の申請で要求されている遺伝毒性試験の組み合わせと、欧州の SCCP (消費者製品科学委員会: 現 SCCS) による化粧品原料評価指針 (Notes of guidance 6th version) で示されている遺伝毒性試験の組み合わせ (酸化染料を除く) の比較から、特に *in vitro* 小核試験の日本での受け入れを中心に議論した。日本の指針のベースとなる ICH (日米 EU 医薬品規制調和国際会議) ガイドラインの改訂作業が進行中であり、*in vitro* 小核試験をほ乳類動物細胞を用いた遺伝毒性試験の一つとして組み入れることが提案されている。現行案のまま改訂されれば、*in vitro* 試験の組み合わせを日本・欧州間の相互に受け入れることは特に問題ないとされた。

C-6) 経皮吸収・皮膚透過性試験分科会

本分科会では、*in vitro* 経皮吸収試験について各種ガイドラインの比較を行い、信頼性や長短所等について議論し、採否の可否を検討した。

In vivo 条件下では、皮膚 (組織) から微少循環系 (血管およびリンパ管) に取り込まれた化学物質が体循環区画に移行 (吸収) するが、その様な吸収は *in vitro* では評価でき

ない。また、化学物質が表皮に不可逆的に結合することはあるが、これは *in vivo* においては皮膚表面の落屑によって除去される。この作用が示唆された場合には、別の試験により実証しなければならないと適用限界を明確にした。

さらに、各種 *in vitro* 試験法についての長短所を議論した。いずれの試験も適用限界を理解した上で、ガイドラインやガイダンスに準拠した正しい試験で行った *in vitro* 試験から、*in vivo* の結果を推定することが可能であると考えられた。正しい方法というのは皮膚の選定、レセプター相の選定、皮膚代謝の有無、試験物質の物性等を十分に考慮することである。適用限界を十分に理解した上で評価すれば、化学物質のリスク評価および効能評価の一つの評価系として十分に活用できるとされた。

C-7) あり方検討会

2009年未までにすべての各分科会からの報告を受け、あり方検討会では各分科会の意見に合意し、さらに以下のような提言を行った。

- ①動物福祉や動物実験の 3Rs は尊重されなければならない。
- ②ただし、医薬部外品の安全性レベルを維持することを前提に、動物実験の要否、代替法の選択を判断すべきである。
- ③代替法は OECD テストガイドライン や公的な機関でバリデーション研究や第三者評価が実施されたものを用いる。
- ④代替法は、その適用範囲や限界を理解した上で実施されるべきである。

なお、他の利用可能な情報（物性、既存化学物質からの毒性予測、構造活性相関、他の動物実験結果）を用いて、動物実験および代替法で得られた結果を慎重に評価すべきである。

結果として、現状では使用可能な代替法が少なく、代替法の研究・開発に国や業界などから積極的な財政的な支援が必要であることが明らかになった。現在も多くの代替法が評価されているが、これらの中から医薬部外品の安全性評価に用いるための公的に認証された代替法の適用範囲と限界を、あり方検討会で今後も審議していくべきであると考えている。

D. 結論

約 2 年間のあり方検討会において、試験法の行政的な受け入れについて検討するグループを組織し、代替法を積極的に導入しながら、安全性評価の質を維持することを念頭において協議した。動物愛護の点はもちろんのこと、安全性評価の現状について皮膚科医、化粧品業界代表および毒性試験法や代替法の専門家が同じ場所で意見交換できる仕組みを構築でき、現状での提言をまとめることができた。

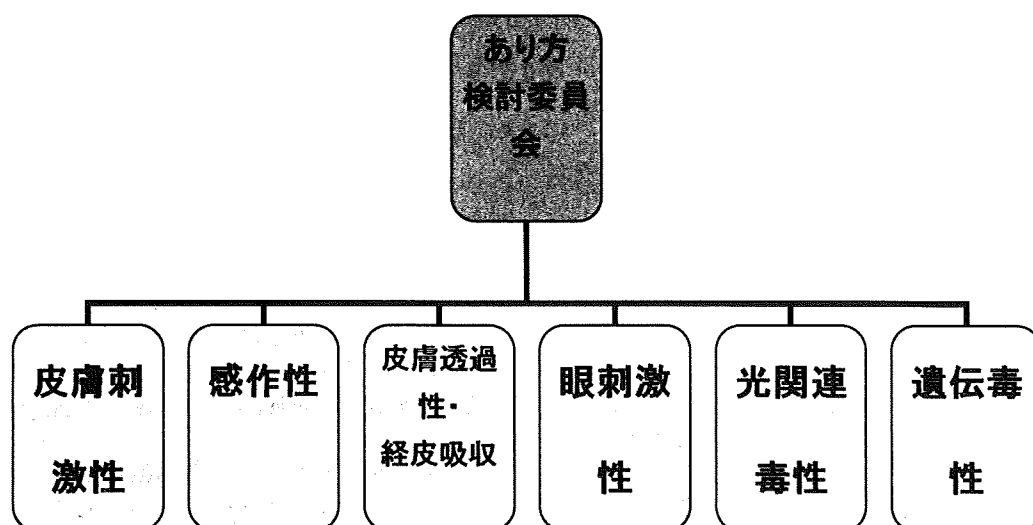


図 1. あり方検討会組織図

表1. あり方検討会分科会リスト

	皮膚刺激性	皮膚感作性	光毒性
医師	河合敬一(河合敬一医院)	中田土起丈(昭和大)	上出良一(慈恵会医大)
学者	夏秋 優(兵庫医科大)	横関博雄(東京医科大)	田中憲穂(食薬センター)
	寒水孝司(大阪大)	大野泰雄(国立衛研)	小島 肇(国立衛研)
業界推薦	小島 肇(国立衛研)	小島 肇(国立衛研)	荒島雅樹(ノエビア)
	森福義(ポーラ)	坂口 斉(花王)	
学会推薦	辰見寿(サンスター)		
	杉山真理子(資生堂)	金澤由紀子(食薬センター)	今井教安(コーセー)
	以上 7 名	以上 6 名	以上 5 名
	眼刺激性	皮膚透過性・経皮吸収	遺伝毒性
医師	平野耕治(藤田保健衛生大学)		
学者	島 賢一郎(J-TEC)	藤井まき子(昭和薬科大)	林 真(国立衛研)
	金子豊蔵(国立衛研)	杉林堅次(城西大)	能美健彦(国立衛研)
	小島 肇(国立衛研)	小島 肇(国立衛研)	本間正充(国立衛研)
業界推薦			小島 肇(国立衛研)
	萩野滋延(資生堂)	桑原 裕史(カネボウ)	江幡真也(ライオン)
学会推薦	瀬戸洋一(P&G)	上月 裕一(資生堂)	笠松俊夫(花王)
	以上 6 名	以上 5 名	以上 6 名

E. 健康危険情報

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

G. 研究発表

誌上発表

- 1) 小島肇夫、感作性・刺激性試験／安全性評価のトラブル時の対応、現場レベルでの皮膚測定・評価～トラブル事例・対策～、pp. 268-273、サイエンス&テクノロジー (2007)
- 2) 小島肇夫、皮膚刺激性試験について、最新動物実験代替法、技術情報協会 pp. 63-71 (2007)
- 3) 小島肇夫、皮膚腐食性試験について、最新動物実験代替法、技術情報協会 pp. 75-84 (2007)
- 4) 小島肇夫、バリデーションについて、最新動物実験代替法、技術情報協会 pp. 267-273 (2007)
- 5) 小島肇夫、皮膚一次刺激性評価法、機能性化粧品素材開発のための in vitro／細胞／組織培養評価法ハンドブック、シーエムシー出版 pp. 308-314 (2007)
- 6) 小島肇夫、日本における動物実験代替法の開発動向、Fragrance Journal 10, 29-34 (2007)
- 7) 小島肇夫、動物実験代替法のバリデーション、COSMETIC STAGE, 8, 54-56 (2007)
- 8) 小島肇夫、代替法国際動向から見た新技術導入の可能性、動物実験代替法のためのバイオマテリアル・デバイス、シーエムシー出版 pp. 1-5 (2007)
- 9) 小島肇夫、急がれる動物実験代替法の開発－皮膚モデルの現状、New Drug Discovery, 023号, p4, (2007)
- 10) 小島肇夫、アレルゴロジーVSトキシコロジー、皮膚アレルギーの旅 Vol. 7, No. 1, p1-7, (2008)
- 11) 小島肇夫、動物実験代替法の現状と展望、日本薬理学会会誌、130、505-509 (2008)
- 12) Kojima, H., JaCVAM: An organization supporting the validation and peer review of new alternatives to animal testing, WC6 proceedings, accepted (2008)
- 13) 小島肇夫、EUにおける動物実験代替法の現況と REACH 対策、日皮協ジャーナル、30 (2) 156-162 (2008)
- 14) 小島肇夫、皮膚感作性試験代替法の現状、Visual Dermatology、7 (3)、328-331 (2008)
- 15) Kojima, H., Perspectives on validation and regulatory acceptance of animal alternative testings in Japan, P&G Actives Risk Communication, 2 (1), 1-4 (2008)
- 16) Hajime Kojima, Tomoko Ando, Katsuhiko Inagaki, Mahito Ohhira, Tadashi Kosaka, Yosuke Nakamura, Hisashi Torishima, Noriyuki Morikawa, Jun Kanno, Mami Kuboki, Michiru Genno, Masaru Nokata, Takanori Harada, Takashi Morimoto, Isao Yoshimura, Yasuo Ohno, Validation of human skin models for skin corrosivity tests in Japan, *Altern. Animal Test. Experiment*, accepted (2008)
- 17) Takashi Omori, Yoshiaki Ikarashi, Yukiko Kanazawa, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Taketo Inoda, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura and Atsuko Yuasa, Validation studies on an alternative endpoint for the local lymph node assay (LLNA-DA): Importance of study management, WC6 proceedings, accepted (2008)
- 18) 小島肇夫、in vivo 経皮吸収試験法、最新・経皮吸収剤～開発と基礎から申請のポイントまで～、株式会社情報機構、東京、pp. 95-103 (2008)
- 19) 小島肇夫、in vitro 経皮吸収試験法、最新・経皮吸収剤～開発と基礎から申請のポイントまで～、株式会社情報機構、東京、pp. 104-113 (2008)
- 20) 小島肇夫、安全性評価と動物実験代替法の現状、薬学雑誌、128 (5) 747-752. (2008)
- 21) 小島肇夫、動物実験の3Rsにおける国内外の動向、ファルマシア、44 (9)、857-861 (2008)
- 22) 小島肇夫、REACH 対応に必要な動物実験代替法の現状、コスメティックステージ、2 (5)、1-4 (2008)
- 23) 小島肇夫、動物実験代替法に関する2008年の国際動向、Fragrance Journal、2009-1、65-69 (2009)
- 24) 小島肇夫、動物実験代替法の現状と展望、J. Environ Dermatol Cutan Allergol, 3 (1)、1-6 (2009)

- 25) Hajime Kojima, Tomoko Ando, Katsuhiro Inagaki, Mahito Ohhira, Tadashi Kosaka, Yosuke Nakamura, Hisashi Torishima, Noriyuki Morikawa, Jun Kanno, Mami Kuboki, Michiru Genno, Masaru Nokata, Takanori Harada, Takashi Morimoto, Isao Yoshimura, Yasuo Ohno, Validation of human skin models for skin corrosivity tests in Japan, *Altern. Animal Test. Experiment*, 13 (1), 36-44 (2008)
- 26) Takashi Omori, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Yoshiaki Ikarashi, Taketo Inoda, Yukiko Kanazawa, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura, Atsuko Yuasa, Interlaboratory validation of the modified murine local lymph node assay based on adenosine triphosphate measurement, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 58 11-26 (2008)
- 27) Arai, S., Yamamoto, N., Kato M., and Kojima, H.: An *in vitro* evaluation methods to test ocular irritation using a human corneal epithelium model, *Altern. Animal Test. Experiment*, 13 (2), 83-90 (2008)
- 28) 小島肇夫:動物実験代替法の現状と展望、*J. Environ Dermatol Cutan Allergol*, 3 (1), 1-6 (2009)
- 29) 小島肇夫:動物実験の3Rsにおける国内外の動向、城西大学生命科学研究センター報告第7号、p37-50 (2009)
- 30) 小島肇夫:動物実験データなしで新規医薬部外品の申請はどこまで可能か?、*BIO INDUSTRY*, 26 (8) 42-49 (2009)
- 31) 小島肇夫:皮膚・粘膜毒性、新版トキシコロジー、日本トキシコロジー学会教育委員会編集、pp.246-254 (2009)
- 32) 小島肇夫:医薬部外品と化粧品、GLP/非GLP試験の具体的実施ポイント、技術情報、東京、pp.425-433 (2009)
- 33) 小島肇夫:REACHにおける環境影響試験、*フレグランスジャーナル* 2009-8、46-51 (2009)
- 34) 小島肇夫、新井晶子、北條麻紀:再構築培養表皮モデルを用いた遺伝毒性の評価、*コスメトロジー研究報告*、17、57-62 (2009)
- 35) 小島肇夫:現在の動物実験代替法の状況について、*LABIO21*、38、17-20 (2009)

学会発表

- 1) Kojima, H. JaCVAM Update, 6th World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.119, Tokyo (2007)
- 2) Kojima, H. JaCVAM Process to Validate and Peer Review of New Alternative Methods, 6th World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.82, Tokyo (2007)
- 3) Kojima, H. Validation study using Japanese models, 6th World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.64, Tokyo (2007)
- 4) Arai, S., Yamamoto, N. and Kojima, H., Safety evaluation test using a human cultured epidermal model- with the ECVAM validation proposal and chemicals-, 6th World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.224. Tokyo (2007)
- 5) Kojima, H., Arai, S., Kubo, K. and Kato M., Dose-response evaluation using a corneal model, an alternative to Draize eye irritation testing, 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, p.223, Tokyo (2007)
- 6) Yamamoto, N, Kojima, H., Tanikawa, A. and Horiguchi, M., A study of retinal regenerative medicine by human iris tissue cells, 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, p.103, Tokyo (2007)
- 7) Yoshiaki Ikarashi, Takashi Omori, Yukiko Kanazawa, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Taketo Inoda, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura and Atsuko Yuasa, First Inter-laboratory validation study on LLNA-DA, 6th World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.254, Tokyo (2007)
- 8) Yukiko Kanazawa, Takashi Omori, Yoshiaki Ikarashi, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Taketo Inoda, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani,

- Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura and Atsuko Yuasa, Second Inter-laboratory validation study on LLNA-DA, 6th World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.255, 6th World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, Tokyo (2007)
- 9) Takashi Omori, Yoshiaki Ikarashi, Yukiko Kanazawa, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Taketo Inoda, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura and Atsuko Yuasa, Validation studies on LLNA: Importance of study management, 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, p.264, Tokyo (2007)
- 10) Stokes, W. S., Bremer, S., Jacobs, M., Ono A., Kojima, H., Ceger, P., Deal F. and Tice, R., NICVEATM/ECVAM/JaCVAM Multi-phase International validation study of an in vitro estrogen receptor transcriptional activation assay to detect agonist and antagonist activity, 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, p.265, Tokyo (2007)
- 11) Kojima, H., International Validation Study of Non Animal Screening Assay for Endocrine Disrupter, 2007 National Institute of Toxicological Research International Symposium, Korea (2007)
- 12) 小島 肇、代替法を取り巻く内外の動きと今後の方向性、皮膚基礎研究クラスターフォーラム第2回教育セミナー、東京(2007)
- 13) 小島 肇、動物実験と代替法の現状、城西大学生命科学研究センター講演会、城西大学 (2007)
- 14) 小島 肇、EUにおける動物実験代替法の現状と REACH 対策、日皮協・会員研究会、京都 (2007)
- 15) 小島 肇、3次元培養皮膚モデルを用いた皮膚毒性の評価、化粧品安全性・機能性評価の最前線、第17回動物細胞工学会シンポジウム、東京 (2007)
- 16) 小島 肇、3次元培養皮膚モデルを用いた皮膚毒性の評価-REACHの現状と将来-、日本動物実験代替法学会 技術講習会「3次元培養皮膚モデルの活用」、東京 (2007)
- 17) 小島 肇、動物実験代替法を用いて皮膚刺激性をどう評価するか、シンポジウム「化粧品・化学物質の皮膚安全性(刺激性・感作性)をどう評価するか、第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、名古屋 (2007)
- 18) Arai, S., Saitou, M., Takashima, Y. Honma, M. and Kojima, H., A new trial for in vitro Comet assay using a 3-dimensional human epidermal model, 36th Annual Meetings of the Japanese Environmental Mutagen Society, Kitakyusyu (2007)
- 19) Kojima, H., et al, Validation and implementation, Round table on International aspects of validation & accept, Regulatory Acceptance and Implementation of 3R approach, Annual Conference 2007 EPAA, Brussels (2007)
- 20) Kojima, H., The Importance of the in vivo comet assay in genotoxicity testing, Predictive Human Toxicity and ADME/TOX studies, 3rd Annual conference of Mondial Research Presentation, Brussels (2008)
- 21) 小島 肇、国内外の規制動向、WC6 フォローアップシンポジウム 3Rsに基づく動物実験の規制と第三者認証、東京 (2008)
- 22) Kojima, H., et al., Panel Discussion, ICCVAM Tan-Year Anniversary Symposium, Washington DC (2008)
- 23) Kojima, H., Opening remark, Workshop on Acute chemical safety testing: Advancing in vitro approaches and Humane Endpoints for systemic Toxicity Evaluation, Washington, DC (2008)
- 24) Hajime Kojima, Masahiro Takeyoshi Takashi Omori, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Kenji Idehara, Yoshiaki Ikarashi, Yukiko Kanazawa, Eiji Maki, Naoto Nakagiri, Masashi Tanaka, Atsuko Yuasa, and Isao Yoshimura, Inter-laboratory validation study on LLNA-BrdU, 47th Annual SOT meeting, Seattle (2008)
- 25) 小島 肇、日本の動向と JaCVAM の活動、JaCVAM 第1回ワークショップ「昨今の試験法ガイドラインを巡る国際動向」、東京 (2008)
- 26) 小島肇夫、REACH 対応と動物実験代替法、第128回FJセミナー、東京 (2008)
- 27) Kojima, H., Japanese Collaboration on Alternative to Animal Toxicology Testing, World Congress on in Vitro Biology, Tucson (2008)
- 28) 小島肇、武吉正博、大森崇、寒水孝司、有馬和範、出原賢治、金澤由基子、牧栄二、中桐直人、五十嵐良明、田中正志、吉村功、湯浅敦子:LLNA-BrdU法の施設間バリデーション研究、第35回日本トキシコロジー学会学術年会、東京 (2008)

- 29) 小島肇、武吉正博、出原賢治：非 RI 法による皮膚感作性試験代替法 (LLNA 法) のバリデーション研究－試験法概要－、第 15 回日本免疫毒性学会学術大会、東京 (2008)
- 30) 出原賢治、小島肇、武吉正博：非 RI 法による LLNA 法の比較、第 38 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、大阪 (2008)
- 31) Kojima, H., International Current of 3Rs International Symposium on the 3Rs Promotion in Asia, Saitama (2008)
- 32) 小島 肇：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討会報告、日本動物実験代替法学会第 21 回大会、埼玉 (2008)
- 33) 杉山真理子、河合敬一、小島 肇、寒水孝司、辰見寿、夏秋優、森福義：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 皮膚刺激性分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第 21 回大会、埼玉 (2008)
- 34) 金澤由基子、横関博雄、中田土起丈、坂口斉、大野泰雄、小島 肇：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 感作性試験分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第 21 回大会、埼玉 (2008)
- 35) 瀬戸 洋一、萩野 滋延、畠 賢一郎、森田 正道、平野 耕治、金子 豊蔵、小島 肇：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 眼刺激性分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第 21 回大会、埼玉 (2008)
- 36) 藤井まき子、小島 肇、杉林堅次、上月裕一、桑原裕史：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 皮膚透過・経皮吸収試験分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第 21 回大会、埼玉 (2008)
- 37) 笠松俊夫、江幡真也、林 真、能美建彦、本間正充、小島 肇：医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会報告 遺伝毒性分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第 21 回大会、埼玉 (2008)
- 38) 武吉正博、小島 肇、大森崇、寒水孝司、有馬和範、出原賢治、金澤由基子、牧栄二、中桐直人、五十嵐良明、田中正志、吉村功、湯浅敦子：LLNA-BrdU 法の施設間バリデーション研究、日本動物実験代替法学会第 21 回大会、埼玉 (2008)
- 39) 小島 肇、安藤洋子、山口能宏、小坂忠司、鈴木民恵、湯浅敦子、渡邊幸彦、篠田伸介、出原賢治、吉村 功、宮岡悦良、石山賢也、加藤雅一、大森 崇：培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究 予備試験結果、日本動物実験代替法学会第 21 回大会、埼玉 (2008)
- 40) 小島 肇：in vitro 遺伝毒性試験－光と影－、第 37 回日本環境変異原学会、沖縄 (2008)
- 41) 小島 肇：毒性試験における培養細胞の利用、安全性評価研究会 2008 年冬のセミナー、東京 (2008)
- 42) 小島 肇：動物実験適正化のグローバルな動き－代替法の動きを中心に－、日本制約工業協会医薬品評価委員会 第 102 回基礎研究部会総会、京都 (2009)
- 43) Kojima, H., Current aspects of LLNA-DA and LLNA-BrdU as alternatives for skin sensitizer classification in Japan, 2009 Winter Conference of Korean Society of Alternatives to Animal Experiments, Seoul (February, 2009)
- 44) 小島 肇：バリデーション研究とは何か？& 国際動向、JaCVAM 第 2 回ワークショップ、東京 (2009)
- 45) 小島 肇：培養皮膚モデルバリデーション研究、JaCVAM 第 2 回ワークショップ、東京 (2009)
- 46) 小島 肇：動物実験代替法に関する国内外の動向、JALAM シンポジウム「安全性試験における動物実験代替法－国内外の動向と代替法開発の現状－」、大宮 (2009)
- 47) 小島 肇：動物実験代替法における培養細胞の利用：合同追悼シンポジウム「黒田行昭先生を偲んで」、日本組織培養学会第 82 回大会、栃木 (2009)
- 48) 小島 肇：バリデーション試験の今後の予定について、コメントアッセイ国際バリデーション試験進捗報告、日本環境変異原学会 MMS 研究会 第 54 回定例会、熱川 (2009)
- 49) 小島 肇、安藤洋子、山口能宏、小坂忠司、鈴木民恵、湯浅敦子、渡邊幸彦、篠田伸介、出原賢治、吉村 功、宮岡悦良、石山賢也、加藤雅一、大森 崇：培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究、第 36 回日本トキシコロジー学会学術年会、盛岡 (2009)
- 50) 小島 肇：OECD Test Guideline 記載モデルとしての LabCyte EPI-MODL の可能性、皮膚基礎研究クラスターフォーラム、

- 東京 (2009)
- 51) Kojima, H. : 3D comet assay, JaCVAM experience, 5th International Workshop on Genotoxicity Testing, Basel (2009)
 - 52) Kojima, H., Yamakage, K., Burlinson, B., Escobar, P., Pant, K., Kraynak, A., Hayashi, M., Corvi, R., Uno, Y., Schechtman, L., Tice, R. and Honma, M.: International validation study of the in vitro alkaline comet assay, 8th International Comet Assay Workshop, Perugia (2009)
 - 53) Nakajima, M., Masumori, S., Tanaka, J., Hayashi, M., Uno, Y., Kojima, H. and Tice, R.: An atlas of comet images: JaCVAM initiative International Validation trial for the in vivo comet assay, 8th International Comet Assay Workshop, Perugia (2009)
 - 54) Kojima, H. : Validation of innovative methods for safety testing: drawbacks and advantages of Japanese validation studies, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 55) Kojima, H., Matsui, T., Kohara, A., Yoshida, A. and Nakamura, Y.: GCCP initiatives in Japan, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 56) Ono, A., Takeyoshi, M., Bremer, S., Jacob, M., Laws, S., Sozu, T. and Kojima, H.: The International validation study for the ER alpha STTA antagonist assay using HeLa9903, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 57) Allen, D., Deal, F., Ceger, P., Gordon, J., Pazos, P., deLange, L., Bremer, S., Nakamura, M., Kojima, H., Ono, A., Tice, R. and Stokes W.: Testing of coded substances for a multi-phases international validation study of an estrogen receptor (ER) transcriptional activation (TA) assay, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 58) Kojima, H., Iijima, M., Matsunaga, K., Sasa, H., Itagaki, H., Okamoto, Y., Nishiyama, N., Mita I., Washida, J., Masuyama, K., Onodera, H., Masuda, M., Ohno, Y.: Review of an alternative to animal testing for safety evaluation of cosmetic ingredients using Quasi-drug, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 59) Wind, M., Blakey, D., Kojima, H., Kreysa, J. and Stokes, W.: What is the international cooperation on alternative test methods (ICATM) and what is its role?, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 60) Kojima, H. : JaCVAM's role in the 3Rs and ICATM, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 61) Kojima, H. : Recent progress and future directions at JaCVAM, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 62) Inoue, T., Masuda, M., Akita, M., Kojima, H. and Ohno, Y.: JaCVAM statement on new alternative to animal testing, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 63) Takeyoshi, M., Kojima, H., Omori, T., Sozu, T. and Yoshimura, I.: Validation study for non-radioisotopic local lymph node assay based on BrdU incorporation (LLNA-BrdU), 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 64) Kojima, H., Ando Y., Yamaguchi Y., Kosaka T., Suzuki T., Yuasa A., Watanabe Y., Shinoda S., Idehara K., Yoshimura I., Miyaoka E., Ishiyama K., Kato M., Omori T. : Validation of LabCyte EPI-MODEL24, an *In Vitro* Assay for Detecting Skin Irritants, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 65) Yamamoto, N., Hirano, K., Kato, M., Hata, K., Horiguchi, M., Taniguchi, K. and Kojima, H.: Cell surface marker of corneal epithelium stem cells and culture, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 66) Lowther, D., Wind, M., Stokes, W., Barroso, J., Zuang, V., Amcoff, P., Kojima, H., Prinsen, M., Tice, R., Allen, D. and McCall, D.: International acceptance of in vitro alternative ocular safety testing methods: the isolated chicken eye (ICE) test method (Draft OECD TG 438), 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 67) Merrill, J., Wind, M., Stokes, W., Barroso, J., Zuang, V., Amcoff, P., Kojima, H., Jacobs, A., McCall, D. Allen D. and Tice, R.: International acceptance of in vitro alternative ocular safety testing methods: bovine corneal opacity and permeability (BCOP) test method (Draft OECD TG 437), 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
 - 68) Hayashi, M., Uno, Y., Honma, M., Schectmann, L., Tice, R., Corvi, R., Morita, T., Asano, N. and Kojima, H.: In vivo Comet Assay: Update on the on-Going international validation study, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life

- Sciences, Rome (2009)
- 69) Honma, M., Kojima, H., Morita, T., Uno, Y., Asano, N., Nakajima, M., Corvi, R., Tice, R., Schechtman, L. and Hayashi, M.: International validation study of the in vitro alkaline comet assay, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 70) Kojima, H., Arai S. and Hojo M.: Adequate conditions for performance of comet assay using 3-dimensional human epidermal model, 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 71) Stokes, W., Wind, M., Matheson, J., Jacob, A., Casati, S., Kojima, H., Allen, D., Burns, T., Salicru, E., Strickland, J. and Tice, R., Internationally harmonized performance standards (PS) for the murine local lymph node assay (LLNA), 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 72) Honma, M., Kojima, H., Morita, T., Uno, Y., Asano, N., Nakajima, M., Corvi, R., Tice, R., Schechtman, L. and Hayashi, M.: International validation study of the in vitro alkaline comet assay, 25th ICEM, Florence (2009)
- 73) Uno, Y., Kojima, H., Honma, M., Schechtman, L., Tice, R., Corvi, R., Morita, T., Asano, N. and Hayashi, M.: In vivo Comet Assay: Update on the on-Going international validation study, 25th ICEM, Florence (2009)
- 74) 小島 肇: 動物実験代替法における国内外の動向、日本薬学会関東支部大会、埼玉 (2009)
- 75) 小島 肇: In vitro 安全性・機能性評価及び作用メカニズム・新規物質探索研究の最前線、第 22 回動物細胞工学シンポジウム、東京 (2009)
- 76) 小島 肇: 医薬部外品の承認申請における安全性に関する資料のあり方検討会、日本産業皮膚衛生協会 秋季研修会、京都 (2009)
- 77) Kojima, H.: Japanese views in the 3Rs in the 21st century, ZEBET's 20th Anniversary Symposium, Berlin, Germany (2009)
- 78) Kojima, H.: Organization of JaCVAM and its activity, KoCVAM International Symposium and 6th Congress of KSAAE, Seoul (2009)
- 79) Kojima, H.: Utilization of an alternative to animal testing for safety evaluation of cosmetic ingredients using Quasi-drug, The 17th ICDS (International Contact Dermatitis Symposium) and the 10th APEODS (Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium), Kyoto (2009)
- 80) Kojima, H.: Japanese approach to regulatory acceptance of new skin sensitization testings with considerations to animal welfare and 3Rs, The 17th ICDS (International Contact Dermatitis Symposium) and the 10th APEODS (Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium), Kyoto (2009)
- 81) 小島 肇、安藤洋子、山口能宏、小坂忠司、鈴木民恵、湯浅敦子、渡邊幸彦、篠田伸介、出原賢治、吉村 功、宮岡悦良、石山賢也、加藤雅一、大森崇: 培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 82) 小島 肇、飯島正文、松永佳世子、佐々斉、板垣 宏、岡本裕子、西山直宏、小野寺博志、見田 活、鷺田 淳、益山光一、増田光輝、大野泰雄: 医薬部外品の承認申請における安全性に関わる資料のあり方検討委員会報告、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 83) 小島 肇、井上 達、増田光輝、秋田正治、大野泰雄: 動物実験代替法公定化のための JaCVAM 提案書、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 84) 小野 敦、武吉正博、Susanne Bremer、Miriam Jacob、Susan C. Laws、寒水孝司、小島 肇: HeLa9903 細胞を用いたエストロゲン受容体転写活性化試験によるアンタゴニスト検出法の国際バリデーション、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 85) 本間正充、山影康次、Burlinson, B., Escobar, P., Pant, K., Kraynak, A., 林 真、中嶋圓、鈴木雅也、Corvi, R., 宇野芳文、Schechtman, L., Tice, R., 小島 肇: In vitro アルカリコメットアッセイ国際バリデーション研究、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 86) 小島 肇、笠松俊夫: IWGT 報告 トピックス 3: 予測性の高い in vitro 試験の提案、日本環境変異原学会第 38 回大会、清水・静岡 (2009)
- 87) 中嶋圓、小島 肇、宇野芳文、本間正充、林 真: コメットアッセイの国際バリデーション、日本環境変異原学会第 38 回大会、清水・静岡 (2009)

- 88) 小島 肇、北條麻紀、新井晶子：3次元培養表皮モデルを用いるコメットアッセイと細胞毒性の関係、日本環境変異原学会第38回大会、清水・静岡（2009）
- 89) JaCVAM：コメットアッセイ国際バリデーションプロジェクトチーム：インビボコメットアッセイ：JaCVAM国際バリデーション試験の進捗状況報告、日本環境変異原学会第38回大会、清水・静岡（2009）
- 90) 伊藤正俊、関東裕美、鷲崎久美子、松永佳世子、矢上晶子、中川真美子、加藤則人、河合恵一、滝脇弘嗣、吉村 功、小島 肇：パッチテストによる皮膚一次刺激性評価（2）、第39回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、京都（2009）
- 91) 中村昌文、半田洋士、小野 敦、小島 肇：Lumi-cell ERアッセイ法の国際バリデーション(第二報)、第12回環境ホルモン学会研究発表会、東京（2009）
- 92) 小島 肇、飯島正文、松永佳世子、佐々斉、板垣 宏、岡本裕子、西山直宏、小野寺博志、見田 活、鷲田 淳、益山光一、増田光輝、大野泰雄：あり方検討会設立の経緯及び動物実験代替法の現状、医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わる資料のあり方検討委員会報告、東京（2009）
- 93) 山本直樹、平野耕治、谷川篤宏、加藤雅一、島賢一郎、小島 肇、綾木雅彦、堀口正之、谷口孝喜：角膜上皮細胞における組織幹細胞マーカーの検索と初代分離培養法および遺伝子導入法の検討、日本組織培養学会第82回大会、栃木（2009）
- 94) 山本直樹、平野耕治、谷川篤宏、加藤雅一、島賢一郎、小島 肇、綾木雅彦、堀口正之、谷口孝喜：角膜上皮細胞の組織幹細胞マーカーと初代分離培養法および遺伝子導入法の検討、第41回日本臨床分子形態学会総会・学術集会、神戸（2009）
- 95) 小島 肇：今後の展望、JaCVAM第3回ワークショップ、h-CLATシンポジウム、東京（2010）
- 96) Kojima, H., Arai, S. and Hojyo, M.: Adequate conditions for performance of comet assay using 3-dimensional human epidermal model, 49th Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)
- 97) W Stokes, M Wind, D Blakey, J Kreysa, H Kojima, E Anklam: Establishment of the International Cooperation on Alternative Test Methods (ICATM) and Its Role in the Validation and Regulatory Acceptance of Globally Harmonized Safety Assessment Methods, 49th Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)
- 98) P Ceger, F Deal, D Allen, G Clark, P Pazos, J de Lange, S Bremer, M Nakamura, H Kojima, A Ono, R Tice, W Stokes, Testing of Coded Substances in the NICEATM/ECVAM/JaCVAM LUMI-CELL[®] STTA Multiphase International Validation Study, 49th Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)
- H. 資料
- | | |
|------|---------------------------|
| 資料 1 | あり方報告会プログラム&要旨集 |
| 資料 2 | 質疑応答集 |
| 資料 3 | あり方検討会 総括報告書 |
| 資料 4 | あり方検討会 皮膚刺激性試験分科会報告書 |
| 資料 5 | あり方検討会 皮膚感作性試験分科会報告書 |
| 資料 6 | あり方検討会 眼刺激性試験分科会報告書 |
| 資料 7 | あり方検討会 光関連毒性試験分科会報告書 |
| 資料 8 | あり方検討会 遺伝毒性試験分科会報告書 |
| 資料 9 | あり方検討会 皮膚透過性・経皮吸収試験分科会報告書 |

医薬部外品の製造販売承認申請における 安全性に関する資料の あり方検討会報告 要旨集

平成21年12月10日(木)10:00-16:30
大田区産業プラザ(東京都大田区南蒲田)

国立医薬品食品衛生研究所
薬理部 新規試験法評価室

プログラム

10 : 00 緒言 小島 肇 (国立医薬品食品衛生研究所)

【座長】大野泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

10 : 05 医薬部外品・化粧品の規制 鷺田 淳 (厚生労働省)

10 : 30 医薬部外品の承認審査とは 安全性試験を中心に

見田 活 (医薬品医療機器総合機構)

【座長】増田光輝 (国立医薬品食品衛生研究所)

10 : 55 あり方検討会設立の経緯および動物実験代替法の現状

小島 肇 (国立医薬品食品衛生研究所)

11 : 45 ……昼食……

13 : 15 分科会報告

【座長】佐々 齊 (株式会社 資生堂)・大野泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

皮膚刺激性試験分科会

杉山真理子 (株式会社資生堂)

皮膚感作性試験分科会

坂口 斉 (花王株式会社)

眼刺激性試験分科会

瀬戸洋一 (P&G ジャパン株式会社)

光関連毒性試験分科会

今井教安 (株式会社コーセー)

遺伝毒性試験分科会

笠松俊夫 (花王株式会社)

皮膚透過性・経皮吸収試験分科会

上月裕一 (株式会社資生堂)

15 : 15 ……休憩……

15 : 45 総括

【座長】板垣 宏 (株式会社 資生堂)・小野寺博志 (医薬品医療機器総合機構)

あり方検討会の総括報告

パネルディスカッション

16 : 30 閉会挨拶 小島 肇 (国立医薬品食品衛生研究所)

本検討会は厚生労働科学研究 (H19 一般-003) の補助を受けております。
また、本報告会開催には(財)日本公定書協会の支援を受けています。

目次

医薬部外品・化粧品規制／鷺田 淳（厚生労働省）	3
医薬部外品の承認審査とは 安全性試験を中心に／見田 活 （医薬品医療機器総合機構）	4
あり方検討会設立の経緯および動物実験代替法の現状／小島 肇 （国立医薬品食品衛生研究所）	5
皮膚刺激性試験分科会／杉山真理子（株式会社資生堂）	6
皮膚感作性試験分科会／坂口 斉（花王株式会社）	7
眼刺激性試験分科会／瀬戸洋一（P&G ジャパン株式会社）	8
光関連毒性試験分科会／今井教安（株式会社コーセー）	9
遺伝毒性試験分科会／笠松俊夫（花王株式会社）	10
皮膚透過性・経皮吸収試験分科会／上月裕一（株式会社資生堂）	11
京急蒲田駅周辺飲食店マップ	12

医薬部外品・化粧品の規制

～薬事申請における安全性試験の取り組み、考え方について～

厚生労働省医薬食品局 審査管理課

鷲田 淳

薬事法では、医薬品、医薬部外品、化粧品等についてそれらの品質、有効性及び安全性を確認すること、市販後の安全性を確保することが求められています。平成 17 年に改正された薬事法では、その責務は製造販売業者に求められることになり、承認申請時に品質、有効性及び安全性の評価のための資料を提出することが必要となっています。また、市販後においても安全性を確保するための情報提供や、有害事象等の情報収集等の責務が製造販売業者に求められています。

新有効成分を用いた医薬品等の承認申請にあたっては臨床試験成績の提出が求められており、臨床試験の実施に際しては、倫理的観点からその安全性を確保するために動物試験等の非臨床試験の実施が不可欠となっています。しかしながら、動物愛護・動物福祉の観点からは、動物試験において使用する動物数の削減や動物に対する苦痛の軽減が求められており、特に、人体に対する作用が緩和なものとされている化粧品においては、動物実験の実施の回避が求められています。

薬事法に係る承認申請時における安全性試験の取り組み並びに考え方について、医薬部外品及び化粧品を中心に概説します。

医薬部外品の承認審査とは 安全性試験を中心に

独立行政法人医薬品医療機器総合機構
一般薬等審査部
見田 活

医薬品医療機器総合機構(Pharmaceuticals and Medical Devices Agency、以下「PMDA」という)は、平成 13 年に閣議決定された特殊法人等整理合理化計画を受けて、国立医薬品食品衛生研究所医薬品医療機器審査センターと医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構および財団法人医療機器センターの一部の業務を統合し、平成 16 年 4 月 1 日に設立された非公務員型独立行政法人である。

PMDA は、医薬品の副作用等による健康被害に対して、迅速な救済を図り(健康被害救済)、医薬品等の品質、有効性及び安全性について審査し(承認審査)、市販後における安全性に関する情報の収集、分析、提供を行う(安全対策)ことを通じて、国民保健の向上に貢献することを目的としている。

医薬品等の審査のうち、医薬部外品の審査等については、一般薬等審査部が担っており、申請者から承認申請された医薬部外品について、安全性、有効性及び品質の 3 つの観点から承認審査を行っている。

医薬部外品は、薬事法第二条第 2 項の規定により、“人体に対する作用が緩和なもの”とされている。また、医薬部外品のうち、いわゆる薬用化粧品等については、治療を目的としているものではなく(医薬品ではない)、主な使用目的は“防止”であり、毎日使用することが想定されている日常品である。こういった特徴に鑑みた場合、安全性、有効性及び品質のうち、特に、安全性については、問題がないものでなければならない。

医薬部外品の承認申請にあたっては、申請品目の該当する申請区分によって、承認申請の際に添付すべき資料の範囲が異なってくる。例えば、申請区分 1(新有効成分含有医薬部外品等:既に製造販売承認を受けている医薬部外品とその有効成分又は適用方法等が明らかに異なる医薬部外品)や申請区分 3(新添加物含有医薬部外品等:申請区分 1 及び申請区分 2(既承認の医薬部外品と同一性が認められるもの)以外)の場合時は、新規性の高い部分等に関連した安全性、有効性及び品質に係る評価が必要である。

そのうち、安全性試験については、申請内容に応じて、単回投与毒性(急性毒性)に関する資料、反復投与毒性(亜急性毒性、慢性毒性)に関する資料、生殖発生毒性に関する資料、抗原性(皮膚感作性試験、光感作性試験等)に関する資料、変異原性に関する資料、局所刺激(皮膚刺激試験、粘膜刺激試験等)に関する資料、吸収・分布・代謝・排泄に関する資料、ヒトパッチに関する資料等の添付が必要であり、申請者から提出された資料に基づいて、PMDA の審査員が慎重に審査を行っている。

医薬部外品は、品質及び(医薬部外品としての)有効性ととともに、特に、安全性が十分確保されていることが非常に重要であり、申請者による十分な評価が望まれる。

医薬部外品の製造販売承認申請における 安全性に関する資料のあり方検討委員会報告

小島 肇¹、飯島正文²、松永佳世子³、佐々 齊⁴、板垣 宏⁴、岡本裕子⁵、西山直弘⁶、小野寺博志⁷、見田 活⁷、鷺田 淳⁸、益山光一⁸、増田光輝¹、大野泰雄¹
¹ 国立医薬品食品衛生研究所、² 昭和大学、³ 藤田保健衛生大学、⁴ (株)資生堂、⁵ (株)コーセー、⁶ 花王(株)、⁷ (独)医薬品医療機器総合機構、⁸ 厚生労働省

動物実験において3Rs 原則を尊重することが国際的に求められており、それに対応するためには化学物質、化粧品や医薬品の安全性評価のために用いる動物実験代替法(以下、代替法と記す)の研究開発が必要である。しかし、これらの試験法が公的に認知されるためには、開発された試験法が科学的に妥当であるかを検証する専門家による第三者評価や、行政試験法としての適切性に関する評価が必要である。

そこで、医薬部外品における行政試験法として、代替法の適切性を評価するため、厚生労働科学研究「動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究(H19-医薬-003)(研究代表者:小島 肇)」において、医薬部外品の安全性評価ガイドラインの中で代替法をどう使いこなしていくか検討するため、2007年「医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討会(以降、「あり方検討会」と記す)」を設立した。このあり方検討会の委員として、医薬部外品に関係の深い皮膚科医、日本化粧品工業連合会の代表、動物実験代替法の専門家および行政の専門家を招聘した。さらに、このあり方検討会の下に、試験法毎の案を作成する分科会を設立した。皮膚刺激性、感作性、皮膚透過性・経皮吸収、光関連毒性、遺伝毒性および眼刺激性の6分科会である。これらの分科会は、皮膚科専門医、日本化粧品工業連合会の代表、各試験法の専門家および動物実験代替法の専門家で構成されている。

この各分科会において、試験法毎に代替法の適用範囲や限界、それらを用いた場合の安全性評価の問題点に関する検討作業が進んだ。本年、各分科会の作成した報告書をもとに、あり方検討会で包括的な議論を重ね、その見解をまとめる予定である。